

## Kesan Penambahan Protein Soya Terhadap Pengerasan & Kekuatan Mampatan Simen Brushit-HA

(Effect of Soy Protein Addition on the Setting and Compression Strength of Brushite-HA Cement)

MOHD HAFIZ JUMAL, ROSLINDA SHAMSUDIN\*  
& MOHD REUSMAAZRAN YUSOFF

### ABSTRAK

*Kajian ini meliputi penyediaan simen kalsium fosfat yang terdiri daripada campuran serbuk brushit (DCPD) dan hidroksiapatit (HA) yang dihasilkan secara sintesis dalam makmal. Larutan penimbal digunakan sebagai fasa cecair dan dicampurkan dengan campuran serbuk DCPD dan HA bagi menghasilkan simen tulang secara in situ dengan nisbah cecair kepada serbuk (L/P) antara 0.26 – 0.36 mL g<sup>-1</sup>. Sodium alginat dan protein soya ditambahkan ke dalam simen kalsium fosfat dan dikaji kesannya terhadap simen yang dihasilkan. Keputusan kajian menunjukkan simen kalsium fosfat dapat dihasilkan pada nisbah L/P 0.32 mL g<sup>-1</sup> dengan penambahan 1%bt sodium alginat dan 1%bt protein soya dengan kebolehsuntikan yang maksimum (100%) dan tempoh pengerasan selama 26 min. Penambahan protein soya juga telah meningkatkan kekuatan mampatan simen tulang daripada 2.90 MPa (tanpa protein) kepada 3.98 MPa pada 1.5%bt protein. Simen kalsium fosfat-protein soya yang dihasilkan juga menunjukkan sifat kebioaktifan. Pertumbuhan apatit berlaku pada hari ke-3 selepas rendaman di dalam larutan simulasi badan (SBF) dan membesar dengan perlanjutan tempoh rendaman.*

*Kata kunci: Brushit; hidroksiapatit; kebioaktifan; kebolehsuntikan; protein soya*

### ABSTRACT

*This study involved the preparation of calcium phosphate cement which consists of a mixture of brushite (DCPD) and hydroxyapatite (HA) powder synthesized in a laboratory. Buffer solution was used as liquid phase and mixed with the mixture of DCPD and HA powder to produce in-situ bone cement with liquid to powder ratio (L/P) between 0.26 and 0.36 mL g<sup>-1</sup>. Sodium alginate and soy protein was added into the calcium phosphate cement and its affect on the cement was studied. Results showed that the calcium phosphate cement could be formed with maximum injectability (100%) and setting time of 26 min at L/P ratio of 0.32 mL g<sup>-1</sup> with addition of 1wt% sodium alginate and 1wt% protein. Addition of soy protein increased compressive strength of the bone cement from 2.90 MPa (without protein) to 3.98 MPa at 1.5wt% protein. The calcium phosphate-soy protein cement also exhibited bioactivity properties. The growth of apatite has been observed after 3 days soaking in SBF solution and growth with time.*

*Keywords: Bioactivity; brushite; hydroxyapatite; injectability; soy protein*

### PENGENALAN

Penggunaan bahan kalsium fosfat yang dikategorikan sebagai bahan bioseramik mempunyai sifat yang hampir sama dengan tulang dan dijadikan sebagai bahan asas di dalam penghasilan tulang tiruan. Kalsium fosfat simen (CPC) terhasil apabila percampuran satu atau beberapa jenis serbuk kalsium fosfat dengan larutan akues untuk membentuk pes yang mengeras pada tempoh yang tertentu. CPC berbeza dengan penggantian tulang konvensional seperti granul atau blok yang tidak berkeadaan pes dan tidak membenarkan peralihan fasa yang pantas (Bohner et al. 2005). Simen kalsium fosfat yang terhasil ini bersifat biokeserasian, osteokonduktif dan ia akan mengeras selepas proses implan dilakukan (Cama et al. 2009).

Dua jenis kalsium fosfat iaitu dikalsium fosfat dihidrat, (CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O) (DCPD) dan hidroksiapatit, (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>) (HA) telahpun digunakan sebagai bahan penggantian di dalam bidang ortopedik. Dikalsium fosfat dihidrat (DCPD) atau lebih dikenali sebagai brushit dipilih di dalam kajian ini kerana ia bersifat biokeserasian, kebolehherapan, osteokonduktif dan berkebolehan untuk mengeras di dalam keadaan fisiologi (Charriere et al. 2001). HA menjadi pilihan utama sebagai bahan di dalam penggantian tulang dan gigi selama beberapa dekad yang lalu kerana ciri kehablurannya dan struktur kimianya yang hampir sama dengan tulang semulajadi. Protein soya secara umumnya dianggap sebagai protein simpanan di dalam partikel diskrit yang dianggarkan mengandungi sekurang-kurangnya 60 – 70% protein daripada jumlah

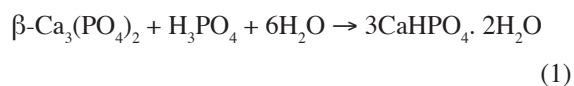
protein kacang soya. Sifat keboleherapannya yang memberi kesan kepada peningkatan terhadap keterlarutan kandungan peptida menyebabkan protein soya dianggap sebagai sumber asid amino didalam nutrisi manusia (Xiang et al. 2008).

Penyelidikan tentang kebolehsuntikan simen kalsium fosfat kini sedang giat dibangunkan dan kaedah ini hanya memerlukan menjalankan pembedahan kecil untuk menyuntik biobahan ke dalam tubuh badan. Antara kelebihan kaedah ini ialah penyediaan secara *in situ*, meminimumkan tempoh pembedahan dan dapat mengisi ruang yang mengalami kecacatan dengan baik (Alves et al. 2008). Kebioaktifan bahan tiruan boleh menghasilkan aktiviti biologi yang mengandungi lapisan apatit. Proses pembentukan apatit pada bahan bioaktif dilakukan secara *in-vitro* iaitu rendaman dalam larutan simulasi badan (SBF) dan kebioaktifan tulang secara *in vivo* boleh dijangkakan dengan menilai daripada pembentukan apatit (Yong & Xiao 2008). Kajian ini dijalankan bertujuan untuk mengkaji komposisi protein soya yang sesuai didalam penghasilan simen brushit-HA yang bersifat kebolehsuntikan, tempoh pengerasan dan sifat mekanik yang baik di samping bersifat bioaktif.

## BAHAN & KAEDAH

### PENYEDIAAN BRUSHIT

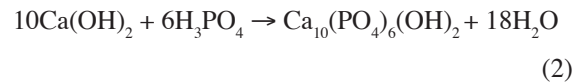
Penyediaan brushit disediakan daripada percampuran beta-tri kalsium fosfat;  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (ketulenan 96%, Fluka) dan asid fosforik;  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (ketulenan  $\geq 85\%$ , Merck). Tindak balas di antara kedua-dua bahan ini ditunjukkan pada persamaan (1) yang dirujuk daripada kajian oleh Bohner et al. (2000) seperti berikut:



Kepekatan larutan  $\text{H}_3\text{PO}_4$  yang digunakan adalah 2.0, 2.3, 2.4 dan 2.5 M. Kedua-dua bahan ini dicampurkan dan dikacau dengan menggunakan pengacau mekanikal (Wisetir HS-50A) sehingga homogen. Setelah homogen, brushit yang terhasil dibiarkan semalaman pada suhu bilik untuk proses pengeringan. Serbuk brushit yang telah kering dikisar dengan menggunakan pengisar bebola (Fritsch, Planetary Mill Pulverisitte 5) selama 1 jam pada 400 putaran per minit (rpm) bagi menghasilkan serbuk brushit yang lebih halus.

### PENYEDIAAN HA

HA dihasilkan daripada proses pemendakan basah yang melibatkan tindak balas kimia di antara kalsium hidroksida;  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (ketulenan 96%, Merck) dan asid fosforik;  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (ketulenan  $\geq 85\%$ , Merck) (Afshar et. al 2003). Tindak balas di antara kedua-dua bahan ini ditunjukkan pada persamaan (2) seperti berikut:



Sebanyak 38.59 g serbuk  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ditimbang dan dimasukkan ke dalam bikar yang berisi 1 L air suling dan dikacau sehingga homogen. Larutan asid fosforik yang berkepekatan 0.3 M dititiskan ke dalam bikar yang mengandungi larutan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Pada waktu yang sama, larutan dipanaskan sehingga mencapai suhu di antara 80 - 90°C. Kadar kelajuan pengacau mekanikal ditetapkan dari awal sehingga akhir penyediaan HA pada 1000 rpm. Setelah selesai larutan asid fosforik dititiskan, larutan di dalam bikar tersebut dibiarkan semalaman. Mendakan yang terbentuk dituras dan hasil turasan dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam. HA yang telah kering dihancurkan dan dikisar menggunakan pengisar bebola (Fritsch, Planetary Mill Pulverisitte 5) selama 3 jam pada 400 rpm untuk menghasilkan serbuk HA yang lebih halus.

### PENYEDIAAN SIMEN KALSIUM FOSFAT

Simen tulang di dalam kajian ini dihasilkan melalui campuran antara fasa pepejal dan cecair. Fasa pepejal terdiri daripada 60%bt serbuk DCPD dan 40%bt serbuk HA. Fasa cecair terdiri daripada larutan penimbal (pH7) iaitu campuran antara 1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dan 1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Peratusan berat protein soya yang digunakan ialah sebanyak 1.0%bt dan 1.5%bt. Sebanyak 1.0%bt sodium alginat ditambah pada penyediaan simen ini. Fasa serbuk dan cecair dicampurkan mengikut pelbagai nisbah cecair kepada serbuk (L/P) iaitu antara 0.26 - 0.36 mL g<sup>-1</sup>. Pes yang terhasil disuntik ke dalam acuan teflon untuk menghasilkan sampel berbentuk silinder berdiameter 6 mm dan 12 mm tinggi. Sampel yang telah mengeras dikeluarkan dari acuan dan diletakkan di dalam inkubator yang bersuhu 37°C untuk proses penuaan selama 7 hari (Wan Khartini 2008).

### UJIAN KEBOLEHSUNTIKAN DAN TEMPOH PENGERSAN

Ujian ini menggunakan picagari berkapasiti 5 mL dengan bukaan hujung picagari yang bersaiz 2 mm. Kebolehsuntikan sesuatu pes diukur mengikut kadar peratusan pes yang mampu dikeluarkan melalui hujung picagari. Daya yang dikenakan ke atas pes yang berada di dalam picagari adalah secara manual. Berdasarkan Khairoun et al. (1998) peratusan kebolehsuntikan diukur melalui persamaan (3):

$$\text{Kebolehsuntikan (\%)} = \frac{\text{Jumlah pes yang disuntik}}{\text{Jumlah pes sebelum disuntik}} \times 100 \quad (3)$$

Tempoh pengerasan simen ditentukan melalui kaedah Gilmore Needle (ASTM C266-08). Tempoh pengerasan ditentukan dari ketika apabila fasa pepejal dan fasa cecair

dicampurkan sehingga ia mengeras di dalam inkubator bersuhu 37°C. Pengerasan dikatakan berlaku apabila jarum yang terdapat pada bebanan 100 g tidak dapat menembusi permukaan sampel. Sebanyak tiga bacaan diambil daripada setiap satu sampel dan kemudian diambil purata.

#### PENYEDIAAN LARUTAN SBF DAN UJIAN KEBIOAKTIFAN

Larutan SBF yang disediakan mengikut kaedah yang dijalankan oleh Kokubu & Takadama (2006). Larutan ini disediakan dengan mencampurkan satu persatu bahan yang telah disukat jisimnya iaitu 7.956 g NaCl, 0.353 g NaHCO<sub>3</sub>, 0.223 g KCl, 0.147 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.305 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.287 g CaCl<sub>2</sub>, 0.071 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> di dalam 1000 ml air ternyah ion. Larutan distabilkan dengan asid hidroklorik (HCl) dan tris(hidroksimetil)aminometana (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> sehingga bacaan pH 7.4.

Sampel simen yang telah mengalami tempoh penuaan selama 7 hari diletakkan di dalam botol yang mengandungi 85ml larutan SBF untuk ujian kebioaktifan. Setiap botol mengandungi hanya satu sampel dan diletakkan dalam inkubator bersuhu 37°C selama 1, 3, 7 dan 14 hari. Bagi tempoh rendaman yang melebihi 3 hari, larutan SBF perlu ditukar setiap 3 hari sekali agar ion-ion yang terdapat di dalam larutan SBF mencukupi untuk proses kebioaktifan berlaku. Ia juga bertujuan untuk mengelakkan keadaan superketepuan berlaku dan seterusnya mempengaruhi pertumbuhan apatit. Ini telah dilaporkan oleh kajian lalu yang menunjukkan pertumbuhan apatit tidak berlaku apabila larutan SBF tidak ditukar sehingga hari ke 14 (Wan Khartini 2008).

#### PEMBELAUAN SINAR-X (XRD)

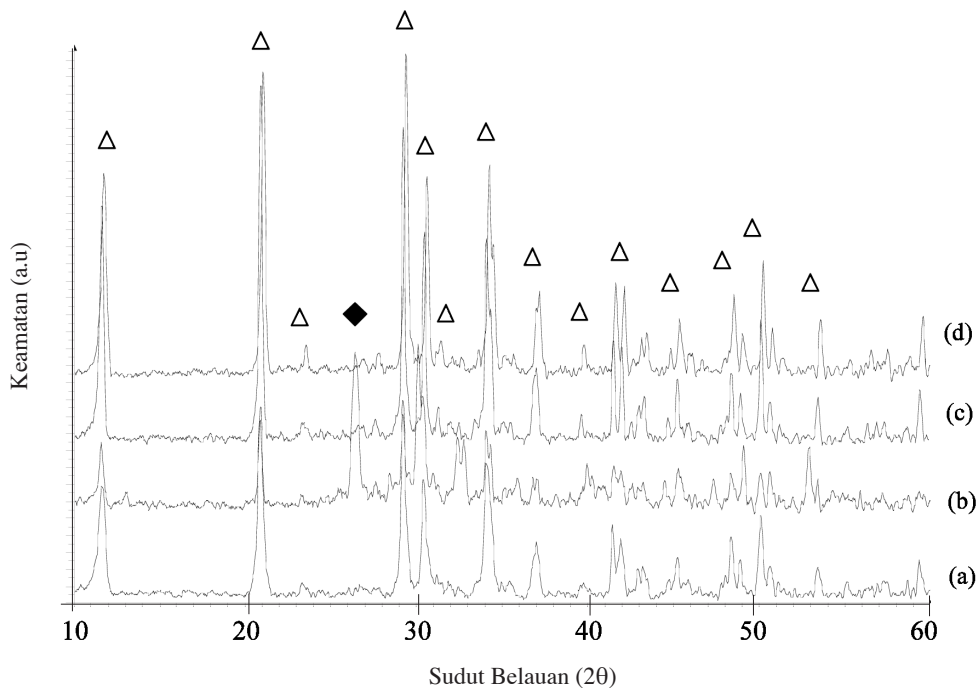
Ujian XRD digunakan untuk menentukan kewujudan fasa dalam sintesis brushit dan HA serta simen kalsium fosfat yang dihasilkan. Alat XRD (Siemens D5000) digunakan untuk merekodkan corak pembelauan yang diindekskan dengan fail piawai pembelauan serbuk (ICDD). Alat pembelauan ini beroperasi pada kadar imbasan 2°/min menggunakan sinaran CuK $\alpha$  dengan panjang gelombang 0.5164 nm dan sudut belauan 2 $\theta$ , antara 20° sehingga 60°.

#### UJIAN KEKUATAN MAMPATAN

Ujian kekuatan mampatan dijalankan dengan menggunakan alat Instron 8800. Sampel yang digunakan untuk melakukan ujian ini adalah sampel yang berbentuk silinder bersaiz 12 mm tinggi dan 6 mm diameter. Kadar kelajuan mampatan adalah 1 mm min<sup>-1</sup> dan bebanan sebanyak 0.5 N dikenakan ke atas sampel.

#### HASIL & PERBINCANGAN

Analisis XRD menunjukkan keputusan penggunaan kepekatan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> yang berbeza bagi menghasilkan brushit (Rajah 1). Berdasarkan rujukan *International Data for Diffraction Data* (ICDD), campuran antara  $\beta$ -TCP dengan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> pada kepekatan 2.5 M mempamerkan puncak-puncak yang menghampiri kewujudan brushit. Pada kepekatan ini juga puncak pada sudut 23.5° jelas kelihatan berbanding kepekatan lain yang menunjukkan kehadiran fasa brushit. Selain itu, pada kepekatan 2.3 M, masih terdapat kewujudan fasa lain iaitu kalsium karbonat yang



RAJAH 1. Penghasilan brushit pada kepekatan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> yang berbeza (a) 2.0 M, (b) 2.3 M, (c) 2.4 M dan (d) 2.5 M (Δ : brushit, ◆ : kalsium karbonat)

dikesan pada sudut 26°. Oleh itu brushit yang berkepekatan 2.5 M digunakan di dalam pencampuran dengan HA untuk menghasilkan simen kalsium fosfat.

Pembentukan simen kalsium fosfat iaitu percampuran antara brushit-HA dipengaruhi oleh nisbah cecair kepada serbuk (L/P). Di dalam pencirian kebolehsuntikan pes simen, julat L/P yang digunakan adalah antara 0.26 – 0.36 mL g<sup>-1</sup> (Jadual 1). Semakin tinggi L/P yang digunakan, semakin mudah pes disuntik keluar dari picagari. Nisbah L/P yang tinggi iaitu 0.36 mL g<sup>-1</sup> menunjukkan fasa cecair yang digunakan didalam percampuran dengan fasa pepejal adalah tinggi. Ini menjadikan pes yang terbentuk dapat disuntik dengan lebih mudah dengan 80% kebolehsuntikan. Keadaan pes yang terbentuk pada L/P yang rendah (0.26 mL g<sup>-1</sup>) menunjukkan pes berkeadaan kering dan agak sukar untuk disuntik keluar daripada picagari di mana 40% sahaja pes boleh disuntik keluar. Pes menjadi semakin lembap dengan peningkatan L/P dan seterusnya menjadi cair jika L/P yang lebih tinggi dikenakan. Walau bagaimanapun 100% kebolehsuntikan masih belum tercapai walaupun nisbah L/P ditingkatkan. Bagi membaiki sifat kebolehsuntikan simen, sodium alginat ditambahkan ke dalam komposisi pes tersebut sebanyak 0.6, 1.0 & 1.5%bt. Berdasarkan keputusan yang diperolehi (Jadual 1) penambahan 1%bt alginat memberikan 100% kebolehsuntikan dengan masa pengerasan yang singkat pada nisbah L/P yang lebih rendah iaitu 0.32 mL g<sup>-1</sup>. Keputusan ini adalah lebih baik jika

dibandingkan dengan penambahan 0.6%bt dan 1.5%bt alginat. Penambahan alginat telah mempengaruhi pes yang disuntik dan pes yang terbentuk berkeadaan lembap dan likat. Kelikatan pes ini sebenarnya mempengaruhi faktor kebolehsuntikan pes simen kalsium fosfat dengan geseran antara partikel-partikel brushit dan HA dapat dikurangkan (Alves et al. 2008). Kajian lalu menunjukkan alginat dapat meningkatkan keseragaman pes dan mengelakkan penyerakan antara partikel (Alves et al. 2008).

Di dalam pembentukan simen kalsium fosfat, selain faktor kebolehsuntikan, tempoh pengerasan juga merupakan faktor yang penting. Tempoh pengerasan yang mencukupi diperlukan untuk pes mengeras sebaik selepas disuntik dan ia tidak boleh terlalu pantas dimana simen akan mengeras sebelum semua pes simen disuntik sepenuhnya. Kandungan cecair di dalam pes simen mempengaruhi tempoh pengerasan. Semakin tinggi kandungan cecair di dalam pes iaitu pada L/P yang semakin meningkat, tempoh pengerasan menjadi bertambah lama. Tempoh pengerasan yang lama memberikan masalah terhadap simen kerana ketidakupayaan untuk menyokong daya tegasan untuk jangka tempoh tertentu selepas diimplan (Xu et al. 2006). Penambahan 1.0%bt dan 1.5% bt protein soya di dalam penyediaan simen kalsium fosfat ini bertujuan untuk melihat kesan terhadap tempoh pengerasan.

Berdasarkan keputusan yang diperolehi, penambahan protein soya memberi kesan yang baik iaitu dapat

JADUAL 1. Kesan penambahan alginat terhadap kebolehsuntikan dan tempoh pengerasan simen kalsium fosfat brushit-HA

Nisbah L/P (mL g <sup>-1</sup> )	Alginat (%bt)	Kebolehsuntikan (%)	Masa Pengerasan (minit)
0.26	0	40	14
0.28	0	50	16
0.30	0	60	19
0.32	0	70	24
0.34	0	70	25
0.36	0	80	27
0.26	0.6	50	17
0.28	0.6	70	20
0.30	0.6	80	24
0.32	0.6	90	25
0.34	0.6	100	28
0.36	0.6	100	30
0.26	1.0	50	17
0.28	1.0	70	22
0.30	1.0	80	25
0.32	1.0	100	28
0.34	1.0	100	31
0.36	1.0	100	35
0.26	1.5	90	26
0.28	1.5	100	29
0.30	1.5	100	31
0.32	1.5	100	35
0.34	1.5	100	38
0.36	1.5	100	41

mengurangkan tempoh pengerasan dan tidak memberikan kesan terhadap kebolehsuntikan pes. Penambahan sebanyak 1%bt protein soya pada nisbah L/P antara 0.32 – 0.36 menghasilkan tempoh pengerasan yang lebih pendek berbanding pes yang tidak ditambah protein soya (Jadual 2). Tempoh pengerasan simen telah berkurangan dari 28 min (tanpa protein soya) kepada 26 min dengan penambahan 1%bt protein soya pada nisbah L/P 0.32 mL g<sup>-1</sup>. Apabila 1.5%bt protein soya ditambah pada komposisi yang sama, tempoh pengerasan meningkat semula kepada 29 min. Ini menunjukkan penambahan 1%bt protein soya dapat mengurangkan tempoh pengerasan pes. Apabila peratusan berat protein soya ditambah secara minimum (0.5%bt – 1.0%bt) secara tidak langsung ia merendahkan kandungan cecair di dalam pes dan seterusnya merendahkan tempoh pengerasan. Chauhan et al. (2006) telah menggunakan penambahan 0.5%bt dan 1%bt protein untuk melihat kesan terhadap tempoh pengerasan simen. Kajian tersebut menunjukkan bahawa penambahan protein dapat memendekkan tempoh pengerasan. Berdasarkan Jadual 2, simen yang mempunyai sifat kebolehsuntikan dan tempoh pengerasan yang baik ialah pada nisbah L/P 0.32 mL g<sup>-1</sup> dengan penambahan 1%bt protein soya.

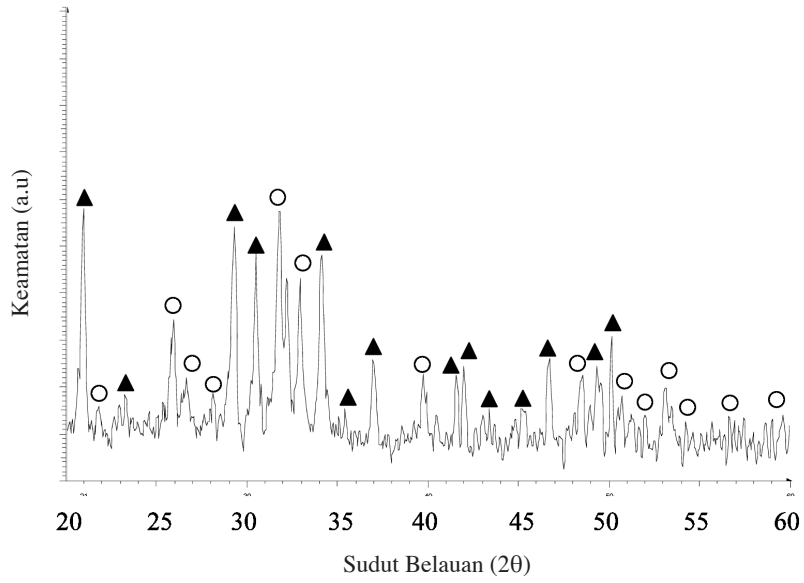
Pes yang telah keras dikenali sebagai simen kalsium fosfat. Simen dibiarkan melalui proses penuaan selama 7 hari sebelum melakukan pencirian yang seterusnya. Keputusan XRD menunjukkan simen yang terhasil hanya mengandungi puncak-puncak belauan yang terdiri daripada puncak brushit dan HA (Rajah 2). Simen kalsium fosfat juga diuji sifat mekaniknya melalui ujian kekuatan mampatan. Rajah 3 menunjukkan kekuatan mampatan simen pada penambahan protein soya yang berbeza. Nilai kekuatan

mampatan semakin meningkat dengan penambahan protein soya. Simen tanpa penambahan protein soya mempunyai kekuatan sebanyak 2.90 MPa dan meningkat kepada 3.25 MPa dan 3.98 MPa apabila ditambah protein soya masing-masing sebanyak 1%bt dan 1.5%bt. Berdasarkan kajian Barralet et al. (2004), kekuatan mampatan sesuatu bahan dipengaruhi oleh salah satu faktor sama ada komposisi atau keliangan. Penambahan protein soya ke dalam simen mengurangkan keliangan yang terbentuk dan menyebabkan simen yang padat dapat dihasilkan. Ini dapat diperhatikan daripada morfologi simen kalsium yang dicerap melalui SEM pada Rajah 4.

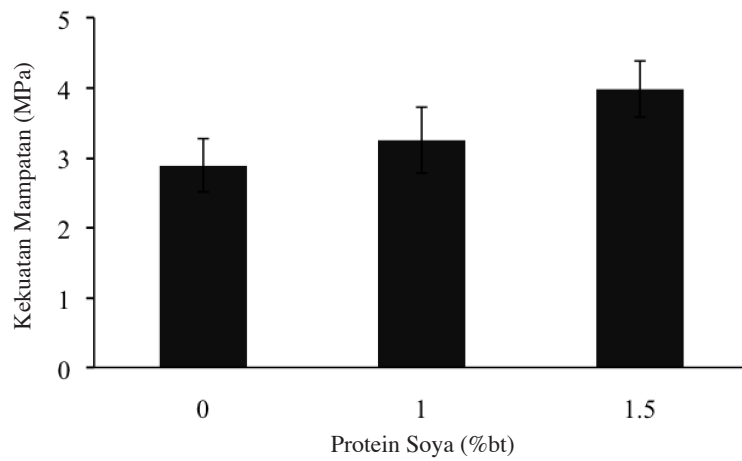
Mikrograf SEM bagi permukaan sampel simen tulang yang direndam di dalam larutan SBF pada tempoh 1, 3, 7, dan 14 hari ditunjukkan pada Rajah 5. Tiada perubahan ketara terhadap morfologi permukaan sampel simen tanpa rendaman dan selepas 1 hari rendaman dalam larutan SBF (Rajah 5(a) & (b)). Selepas hari ke 3 rendaman, didapati berlaku pembentukan struktur seperti jejarum halus pada permukaan sampel simen (Rajah 5(c)). Struktur seperti jejarum ini membesar dengan peningkatan tempoh rendaman. Pertumbuhan apatit berbentuk jejarum halus ini kelihatan lebih jelas pada hari ke 7 rendaman (Rajah 5(d)) dan 14 hari (Rajah 5(e)) rendaman. Perubahan struktur morfologi kepada gugusan-gugusan apatit terjadi selepas direndam pada hari ke 14. Pertumbuhan apatit ini melibatkan proses pemendakan-pemelarutan dan ion Ca<sup>2+</sup> daripada sampel dan ion PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> daripada larutan SBF bergabung untuk menghasilkan apatit (Fathi et al. 2007) dan tempoh rendaman turut mempengaruhi perubahan morfologi simen (Guo et al. 2009). Ia selari dengan kajian ini dengan saiz apatit yang diperolehi membesar dengan tempoh rendaman. Permukaan simen dilihat berubah

JADUAL 2. Kesan penambahan protein soya terhadap kebolehsuntikan dan tempoh pengerasan simen kalsium fosfat brushit-HA dengan 1%bt alginat

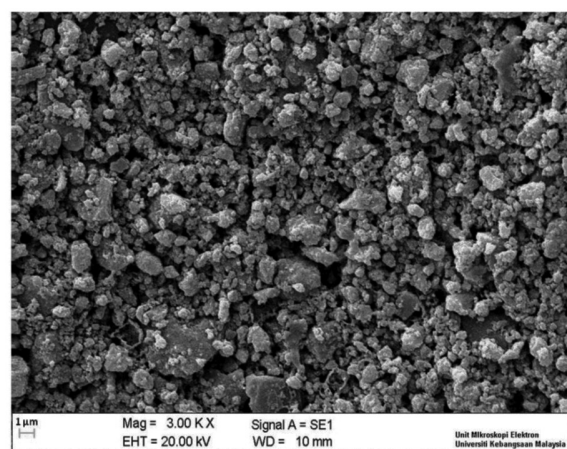
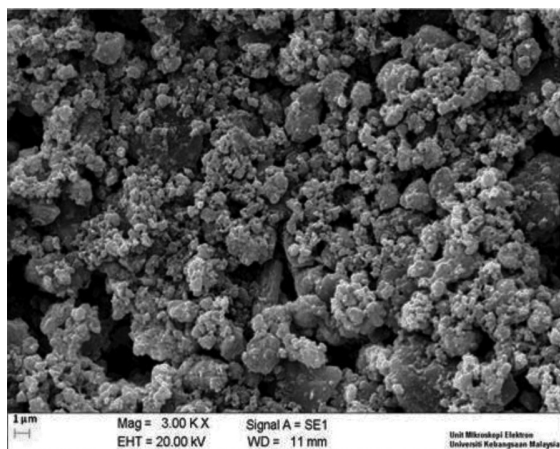
Nisbah L/P (mL g <sup>-1</sup> )	Protein Soya (%bt)	Kebolehsuntikan (%)	Tempoh Pengerasan (minit)
0.26	0	50	17
0.28	0	70	22
0.30	0	80	25
0.32	0	100	28
0.34	0	100	31
0.36	0	100	35
0.26	1.0	60	19
0.28	1.0	80	23
0.30	1.0	90	24
0.32	1.0	100	26
0.34	1.0	100	29
0.36	1.0	100	31
0.26	1.5	80	21
0.28	1.5	90	24
0.30	1.5	100	27
0.32	1.5	100	29
0.34	1.5	100	32
0.36	1.5	100	35



RAJAH 2. Difraktogram XRD bagi simen brushit-HA pada L/P 0.32 mL g<sup>-1</sup> selepas 7 hari proses penuaan (▲ : brushit, ○ : HA)



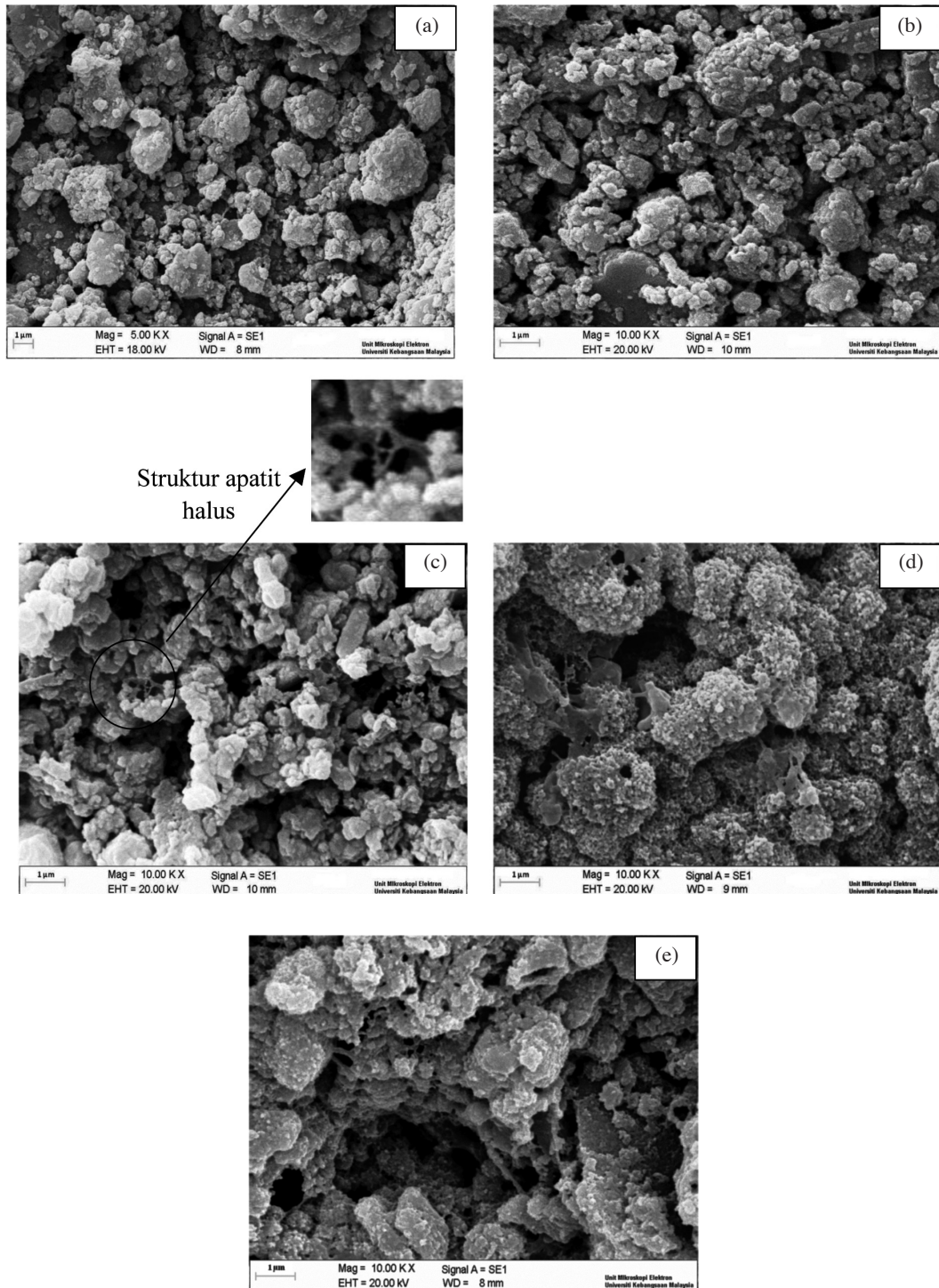
RAJAH 3. Kekuatan mampatan simen brushit-HA dengan 1% alginat pada penambahan protein soya yang berbeza



(a)

(b)

RAJAH 4. Morfologi SEM simen brushit-HA (a) tanpa protein soya dan (b) 1%bt protein soya.

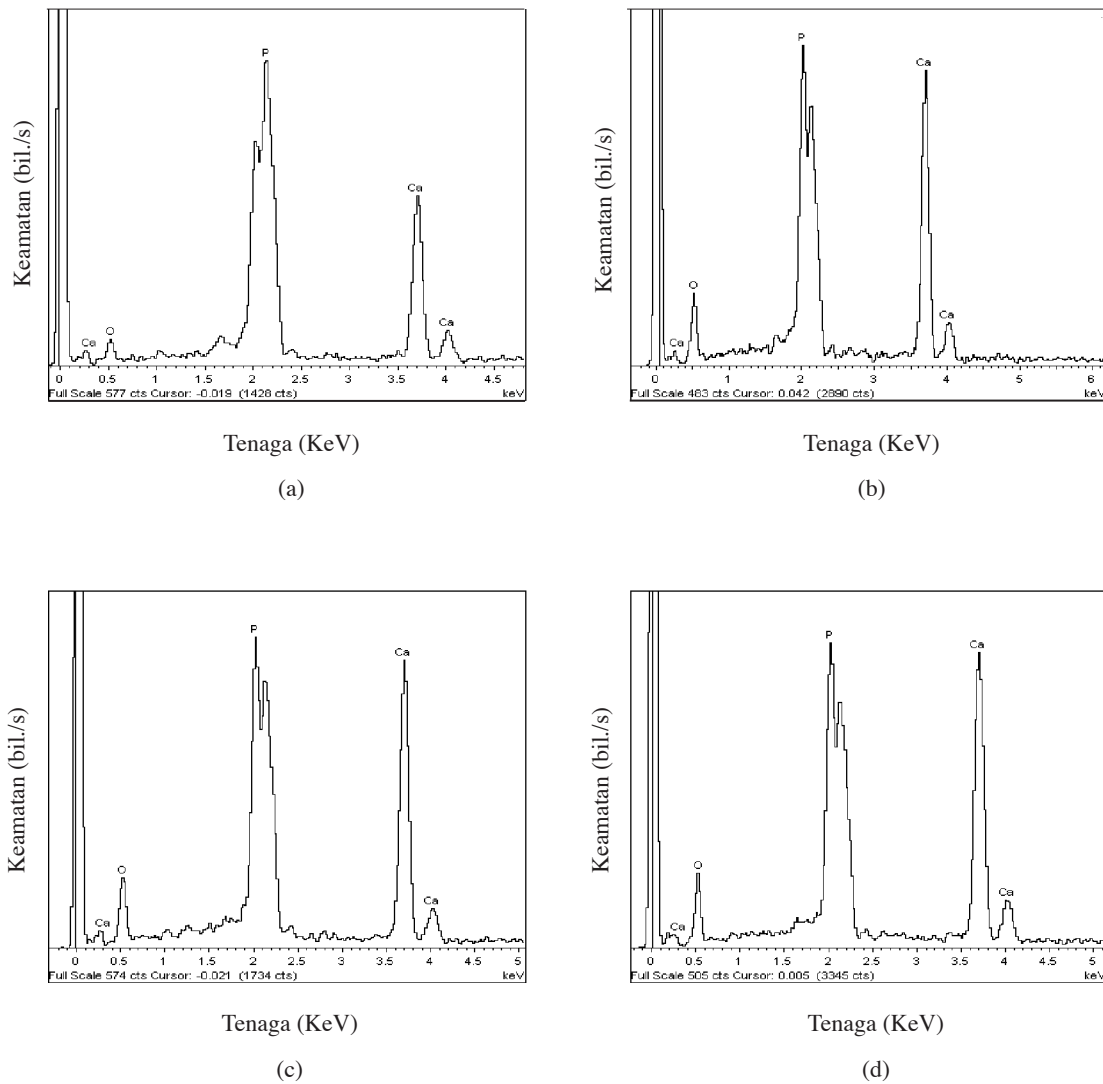


RAJAH 5. Mikrograf SEM simen bagi brushit-HA-1%bt protein soya (a) tanpa rendaman, (b) 1, (c) 3, (d) 7 dan (e) 14 hari rendaman dalam larutan SBF

daripada partikel-partikel halus kepada gugusan-gugusan apatit yang membesar.

Berdasarkan keputusan EDX (Rajah 6), kesemua sampel simen yang direndam dalam larutan mempunyai unsur kalsium (Ca) dan fosforus (P). Nisbah peratusan atom (% at) antara Ca dan P (Ca/P) menunjukkan pengurangan nilai dengan peningkatan tempoh rendaman iaitu setara dengan pembentukan dan pembesaran apatit

yang berlaku. Ini menunjukkan hasil akhir simen yang terbentuk adalah merupakan simen HA kurang kalsium (CDHA) kerana nisbah Ca/P yang diperoleh kurang daripada nisbah Ca/P bagi HA iaitu 1.67. Nisbah Ca/P selalunya tidak konsisten kerana apatit yang terbentuk pada sampel akan mengalami proses pemelarutan-pemendakan sepanjang tempoh rendaman di dalam larutan SBF (Han et al. 2009).



RAJAH 6. Keputusan EDX menunjukkan perubahan nisbah atom Ca/P mengikut hari rendaman di dalam larutan SBF, (a) Ca/P = 1.531 (tanpa rendaman), (b) Ca/P = 1.524 (1 hari), (c) Ca/P = 1.520 (3 hari) dan (d) Ca/P = 1.516 (7 hari)

#### KESIMPULAN

Simen kalsium fosfat (brushit-HA) yang dihasilkan diperoleh pada nisbah cecair kepada serbuk (L/P) 0.32 mL g<sup>-1</sup>. Kebolehsuntikan simen brushit-HA ditingkatkan dengan penambahan 1% alginat manakala penambahan 1%bt protein soya mengurangkan tempoh pengerasan dan meningkatkan kekuatan mampatan simen yang terhasil. Simen brushit-HA ini mempunyai sifat kebiokatifan yang dibuktikan daripada pembentukan apatit pada permukaan sampel simen tulang yang direndam secara *in-vitro* di dalam larutan SBF.

#### PENGHARGAAN

Terima kasih kepada Kementerian Sains, Teknologi & Inovasi (MOSTI) yang membiayai projek penyelidikan melalui peruntukan Science Fund (03-01-02-SF0259) dan Fakulti Sains & Teknologi Universiti Kebangsaan Malaysia yang menyediakan kemudahan bagi menjalankan penyelidikan ini.

#### RUJUKAN

- Afshar, A., Ghorban, M., Ehsani, N., Saeri, M.R. & Sorrell, C.C. 2003. Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite. *Materials and Designs* 24: 197-202.
- Alves, H.G., Luis, A. & Carlos, P. 2008. Injectability evaluation of tricalcium phosphate bone cement. *Journal of Materials Science: Materials in Medical* 19: 2241-2246.
- ASTM C266-08 Standard test method for time of setting of hydraulic cement paste by Gilmore Needles. <http://www.astm.org/Standards/C266.htm>.
- Barralet, J.E., Grover, L.M. & Gbureck, U. 2004. Ionic modification of calcium phosphate cements viscosity. Part II: hypodermic injection and strength improvement of brushite cement. *Biomaterials* 25: 2197-2203.
- Böhner, M., Gbureck, U. & Barralet J.E. 2005. Technological issues for development of more efficient calcium phosphate bone cement: A critical assesment. *Biomaterials* 26: 6423-6429.
- Böhner, M., Merkle, H.P. & Lemaître, J. 2000. In vitro aging of a calcium phosphate cement. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 11: 155-162.



- Cama, G., Barberis, F., Botter, R., Cirillo, P., Capurro, M., Quarto, R., Scaglione, S., Finocchio, E., Mussi, V. & Valbusa, U. 2009. Preparation and properties of macroporous brushite bone cements. *Acta Biomaterialia* 5: 2161-2168.
- Charriere, E., Terazzoni, S., Pittet, C., Mordasini, Ph., Dutoit, M., Lemaitre, J. & Zysset, Ph. 2001. Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements. *Biomaterials* 22: 2937-2945.
- Chauhan, S., Hofmann, M.P. & Shelton, R.M. 2006. Effect of protein addition on the setting behaviour of a calcium phosphate cement. *Key Engineering Materials* 309-311: 841-844.
- Fathi, M.H., Hanifi, A. & Mortazavi, A. 2007. Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder. *Journal of Materials Processing Technology* 202: 536-542.
- Guo, H., Su, J., Wei, J., Kong, H. & Liu, C. 2009. Biocompatibility and osteogenicity of degradable Ca-deficient hydroxyapatite scaffolds from calcium phosphate cement for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 5: 268-278.
- Han, B., Ma, P., Zhang, L., Yin, Y., Yao, K., Zhang, F., Zhang, Y., Li, X. & Nie, W. 2009.  $\beta$ -TCP/MCPM-based premixed calcium phosphate cements. *Acta Biomaterialia* 5: 3165-3177.
- Khairoun, I., Boltong, M.G., Driessens, F.C.M. & Planell, J.A. 1998. Some factors controlling the injectability of calcium phosphate bone cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 9: 425-8.
- Kokubu, T. & Takadama, H. 2006. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 27: 2907-2915.
- Wan Khartini Wan Abdul Khodir. 2008. Penyediaan kalsium fosfat-polietilenaimina. Tesis Sarjana, Fakulti Sains & Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Xiang, Z.K., Guo, M.M., Hua, Y.F., Cao, D. & Zhang, C.M. 2008. Enzymatic preparation of immunomodulating hydrolysates from soy proteins. *Bioresource Technology* 99: 8873-8879.
- Xu, H.H.K., Weir, M.D., Burguera, E.F. & Fraser, A.M. 2006. Injectable and macroporous calcium phosphate cement scaffold. *Biomaterials* 27: 4279-4287
- Yong-Bin Fan & Xiao-Ying Lu. 2008. A study of apatite formation on natural nano hydroxyapatite/chitosan composite in simulated body fluid. *Front. Materials Science China* 2(1): 91-94.
- Mohd Hafiz Jumal & Roslinda Shamsudin\*  
Pusat Pengajian Fizik Gunaan  
Fakulti Sains & Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 Bangi, Selangor, Malaysia
- Mohd Reusmaazran Yusoff  
Kumpulan Biobahan  
Jabatan Teknologi & Bahan Termaju  
Agensi Nuklear Malaysia  
Bangi, 43000 Kajang  
Selangor, Malaysia

\*Pengarang surat-menyurat; email: linda@ukm.my

Diserahkan: 9 Jun 2010

Diterima: 29 November 2010